

## 審査の結果の要旨

氏名：井出 義之

本研究は、生体内防御機構あるいは炎症反応において重要な役割を演じているロイコトリエン (leukotriene, LT) B<sub>4</sub> の産生酵素である LTA<sub>4</sub> 水解酵素の細胞内局在決定部位、細胞内局在制御機構を明らかにするため、蛍光タンパク質 EGFP との融合タンパク質を用いて生細胞を発現させ様々な解析を行い、以下の結果を得ている。

1. EGFP と LTA<sub>4</sub>H の融合タンパク質 (EGFP-LTA<sub>4</sub>H) を様々な細胞に安定発現させたところ、CHO-K1 細胞や、RBL-2H3 細胞では細胞質優位に局在しているが、THP-1 や U937 細胞では核質にも局在し、細胞腫により EGFP-LTA<sub>4</sub>H の核質－細胞質間局在比が異なる事が判明した。
2. LTA<sub>4</sub>H を細胞質あるいは核質に局在させる責任部位を特定するため、LTA<sub>4</sub>H の C 末端の連続した九つの $\alpha$ -helix に着目し、それぞれの deletion mutant を EGFP と融合させ CHO-K1 細胞に発現させた。その結果、第一番目の $\alpha$ -helix は LTA<sub>4</sub>H を核質に局在させるために必要なモチーフを有しており、第九番目の $\alpha$ -helix は LTA<sub>4</sub>H を細胞質に局在させるために必要なモチーフを有している事が明らかとなった。
3. LTA<sub>4</sub>H の核質－細胞質間局在比を制御する機構について、EGFP-LTA<sub>4</sub>H を安定発現している CHO-K1 細胞を用いて解析を行った。その結果、CHO-K1 細胞において EGFP-LTA<sub>4</sub>H は培地中からの血清除去処理により核内に移行する事、更にこの現象は血清除去による細胞死や、細胞周期の停止により引き起こされる現象ではない事が判明した。加えて、チロシンキナーゼを含む細胞内の様々なシグナルカスケードを阻害する Herbimycin A を用いる事によっても EGFP-LTA<sub>4</sub>H は同様に核内に移行する事が観察された。

4. これらの結果を踏まえ、LTA4H はチロシンキナーゼカスケードの下流に存在するシグナルにより局在が制御されていると仮定し、様々な阻害剤を使用して LTA4H の細胞内局在を制御するシグナル分子の解析を試みた。その結果、LTA4H は PI3K ファミリーでなく、MAPK ファミリーにより制御されている事、また MAPK ファミリーの中でも ERK1/2、p38 ではなく、JNK/SAPK により制御されている事が示唆された。

以上、本論文は LTA4H が細胞質、核質両方に局在する事、細胞腫により核質-細胞質間局在比が異なる事、LTA4H の核質への局在には C 末端の第一  $\alpha$ -helix が、細胞質への局在には第九  $\alpha$ -helix が重要である事、そして JNK/SAPK のシグナルにより LTA4H の核質-細胞質局在比が変化する事を明らかにした。本研究はこれまで報告が無かった、LTB4 産生に重要な LTA4H の細胞内局在の機構に関して重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。